

# Receptory beta-adrenergiczne w zdrowym i niewydolnym sercu

Beta-adrenergic receptors in normal and failing heart

Urszula Mackiewicz, Emilia Klemenska, Andrzej Beręsewicz

Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Kardiologia Pol 2007; 65: 294-302

## Wstęp

Podstawowymi regulatorami rzutu minutowego serca, zwłaszcza w czasie wysiłku fizycznego i/lub stresu psychicznego (tzw. sytuacje „walki i ucieczki”, ang. *fight-or-flight*), są współczulny układ nerwowy i mechanizm Franka Starlinga. Stymulacja układu sympatycznego powoduje uwolnienie noradrenaliny ze współczulnych zakończeń nerwowych w sercu oraz adrenaliny z rdzenia nadnerczy. Mediatory te, działając poprzez błonowe receptory beta-adrenergiczne (ang. *beta-adrenergic receptor*,  $\beta$ -AR) zlokalizowane na komórkach sercowych, powodują przyspieszenie akcji serca oraz wzrost kurczliwości kardiomiocytów. Oba te mechanizmy są odpowiedzialne za wzrost rzutu minutowego serca pod wpływem stymulacji współczulnej.

Wydaje się, że ewolucyjnie układ współczulny został przystosowany głównie do udziału w krótkoterminowej regulacji układu krążenia. Jednakże w różnych sytuacjach patologicznych może dochodzić do nadmiernej i/lub długotrwałej stymulacji beta-adrenergicznej serca, co – jak się obecnie wydaje – jest zjawiskiem niekorzystnym.

Przykładem patologii, w której dochodzi do nadmiernej i przewlekłej aktywacji układu współczulnego, jest niewydolność serca. Objawia się to wzrostem poziomu noradrenaliny i adrenaliny we krwi pacjentów z niewydolnością serca w stopniu proporcjonalnym do nasilenia niewydolności mierzonej klasą NYHA. Pierwotnie sądzono, że jest to mechanizm kompensacyjny pozwalający na podtrzymywanie kurczliwości niewydolnego mięśnia sercowego. Obecnie przeważa pogląd,

że jest to zjawisko niekorzystne, za czym przemawia m.in. wybitna skuteczność antagonistów  $\beta$ -AR w leczeniu niewydolności serca.

W artykule przedstawiamy obecny stan wiedzy o szlakach sygnalizacji wewnątrzkomórkowej uruchamianych w wyniku aktywacji trzech typów  $\beta$ -AR obecnych w sercu ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  i  $\beta_3$ ). W uproszczeniu można powiedzieć, że w wyniku krótkotrwałej aktywacji  $\beta$ -AR dochodzi do zmian komórkowego stężenia cyklicznego AMP (cAMP), aktywacji kinazy białkowej A (PKA) i zmiany aktywności różnych białek komórkowych, czego czynnościowym efektem jest przyspieszenie rytmu zatokowego i przewodzenia przedsionkowo-komorowego (p-k) oraz wzrost siły skurczu i przyspieszenie rozkurczu mięśnia sercowego. Natomiast efektem przewlekłej stymulacji  $\beta$ -AR jest aktywacja przynajmniej trzech szlaków komórkowych, których efektem działania jest aparat genetyczny komórki i proces syntezy białek. Na koniec omawiamy zmiany w układzie  $\beta$ -AR i jego szlakach sygnalizacyjnych, jakie towarzyszą niewydolności serca.

## $\beta$ -AR w sercu

W przedsionkach i komorach ssaków i ludzi obecne są  $\beta_1$ -AR,  $\beta_2$ -AR i  $\beta_3$ -AR. W zdrowym ludzkim sercu  $\beta_1$ -AR stanowią ok. 70–80% wszystkich  $\beta$ -AR. W niewydolności serca gęstość  $\beta_1$ -AR na powierzchni komórek sercowych maleje,  $\beta_2$ -AR się nie zmienia, a  $\beta_3$ -AR rośnie, co powoduje wzrost względnego znaczenia stymulacji  $\beta_2$ -AR i  $\beta_3$ -AR.

$\beta$ -AR różnią się powinowactwem do ich naturalnych agonistów, adrenaliny i noradrenaliny. W efekcie niskie

---

### Adres do korespondencji:

dr n. med. Urszula Mackiewicz, Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, ul. Marymoncka 99, 01-813 Warszawa, tel.: +48 22 569 38 40, faks: +48 22 569 37 12, e-mail: urszulam@cmkp.edu.pl

Praca wpłynęła: 11.09.2006. Zaakceptowana do druku: 18.09.2006.

stężenia katecholamin skutkują aktywacją głównie  $\beta_1$ -AR (także gęstość  $\beta_1$ -AR jest największa), natomiast aktywacja  $\beta_2$ -AR, a zwłaszcza  $\beta_3$ -AR, ma miejsce dopiero pod wpływem wyższych stężeń agonistów.

Biologiczne znaczenie obecności trzech rodzajów  $\beta$ -AR w sercu nie jest do końca wyjaśnione, między innymi dlatego, że wiedza na temat wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania informacji poprzez  $\beta_2$ -AR i  $\beta_3$ -AR jest ciągle niekompletna. Niemniej jednak to, co już wiemy, pozwala na sformułowanie hipotezy, że ważnym zadaniem  $\beta_2$ -AR i  $\beta_3$ -AR jest ograniczanie niekorzystnych skutków nadmiernej stymulacji  $\beta_1$ -AR, zwłaszcza związanych z nadmiernym obciążeniem komórki jonami wapnia ( $\text{Ca}^{2+}$ ) i nadmiernym zużyciem energii.

### Przekazywanie sygnału za pośrednictwem $\beta$ -AR

$\beta$ -AR należą do rodziny receptorów błonowych związanych z białkiem G (ang. *G-protein coupled receptors*, GPCR). Jak wszystkie receptory z tej rodziny,  $\beta$ -AR są zbudowane z siedmiu przezbłonowych helis białkowych, gdzie N-koniec białka jest miejscem wiązania agonisty na powierzchni błony komórkowej, a C-koniec – miejscem oddziaływania z białkiem G i miejscem fosforylacji przez różne kinazy białkowe po stronie cytoplazmatycznej [1].

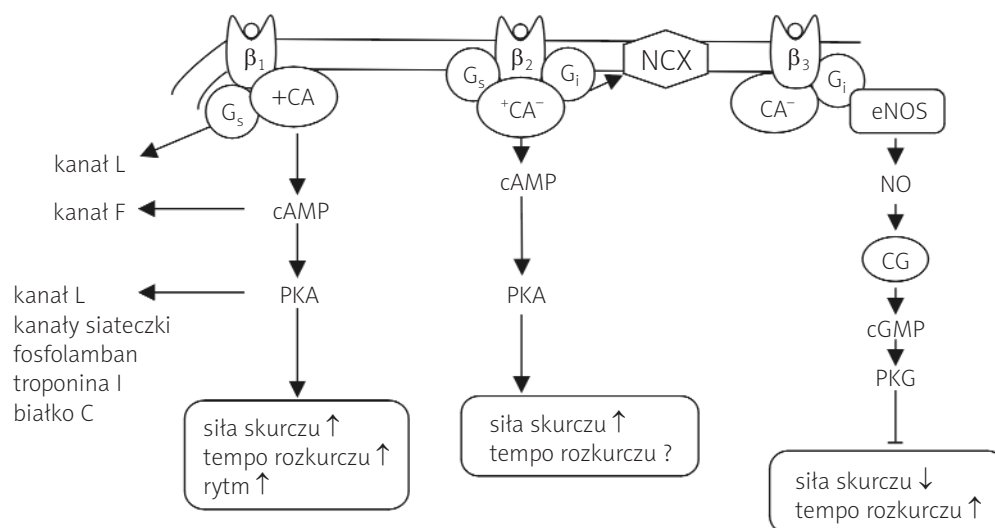
Sekwencję wydarzeń związanych z przezbłonowym przekazywaniem informacji poprzez  $\beta$ -AR przedstawiono na Rycinie 1. Połączenie agonisty z receptorem aktywuje receptor, który wchodzi w interakcje z białkiem G. Trzycięciowe białko G rozpada się na podjednostkę  $\alpha$

i kompleks podjednostek  $\beta\gamma$ , oba te fragmenty białka G mogą modyfikować właściwości innych białek. W wypadku aktywacji  $\beta$ -AR podjednostka  $\alpha$  modyfikuje aktywność cykazy adenylowej (CA), błonowego enzymu, który przekształca ATP w cAMP, który jest drugorzędowym przekaźnikiem informacji [2]. Szlak związany z produkcją cAMP jest znany jako tzw. klasyczny szlak działania  $\beta$ -AR. Aktywacja  $\beta$ -AR może dodatkowo prowadzić do zmiany właściwości innych, poza cyklazą, białek, co jest określane jako nieklasyczny szlak działania  $\beta$ -AR (szczegóły poniżej).

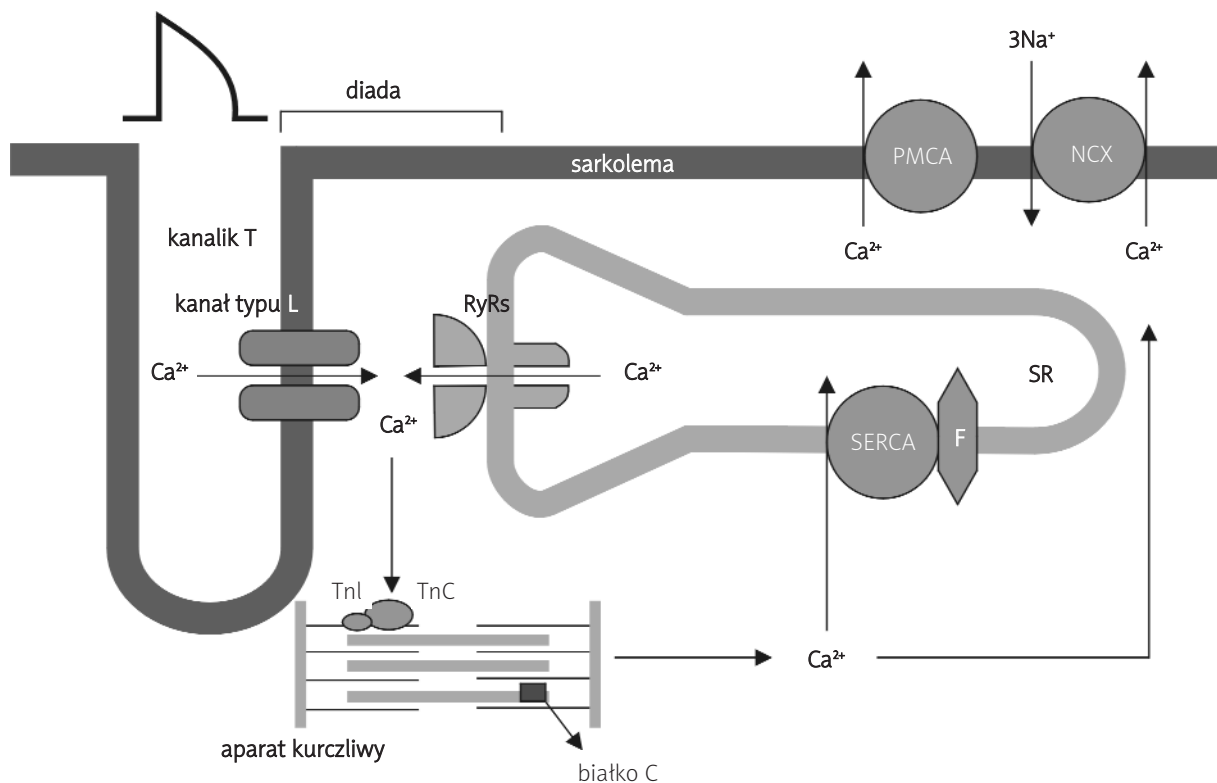
Istnieją dwie odmiany białek G związanych z  $\beta$ -AR i wpływających na cyklazę. Białko  $G_s$ , z podjednostką  $\alpha_s$ , stymuluje enzym. Natomiast białko  $G_i$ , z podjednostką  $\alpha_i$ , jest inhibitorem enzymu. Jak ilustruje Rycina 1., poszczególne typy  $\beta$ -AR łączą się z  $G_s$  i  $G_i$  w różnych proporcjach.  $\beta_1$ -AR oddziałuje prawie wyłącznie z  $G_s$ , wobec czego jego aktywacja skutkuje silną aktywacją cykazy adenylowej i wzrostem komórkowego stężenia cAMP.  $\beta_2$ -AR oddziałuje zarówno z  $G_s$ , jak i  $G_i$ , i wobec tego powoduje równoczesną stymulację (via  $G_s$ ) i hamowanie (via  $G_i$ ) komórkowej produkcji cAMP. Ostateczny efekt działania  $\beta_2$ -AR jest sumą obu tych efektów, z przewagą efektów stymulacji. Natomiast  $\beta_3$ -AR są prawdopodobnie prawie wyłącznie sprzężone z  $G_i$  i ich aktywacja powoduje hamowanie produkcji cAMP.

### Aktywacja $\beta_1$ -AR i klasyczny szlak przekazywania sygnału

Aktywacja  $\beta_1$ -AR powoduje aktywację cykazy adenylowej, wzrost komórkowej produkcji cAMP i stymulację



**Rycina 1.** Szlaki aktywowane stymulacją poszczególnych typów receptorów beta-adrenergicznych (objaśnienia skrótów w tekście)



**Rycina 2.** Obieg jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w kardiomiocytach.

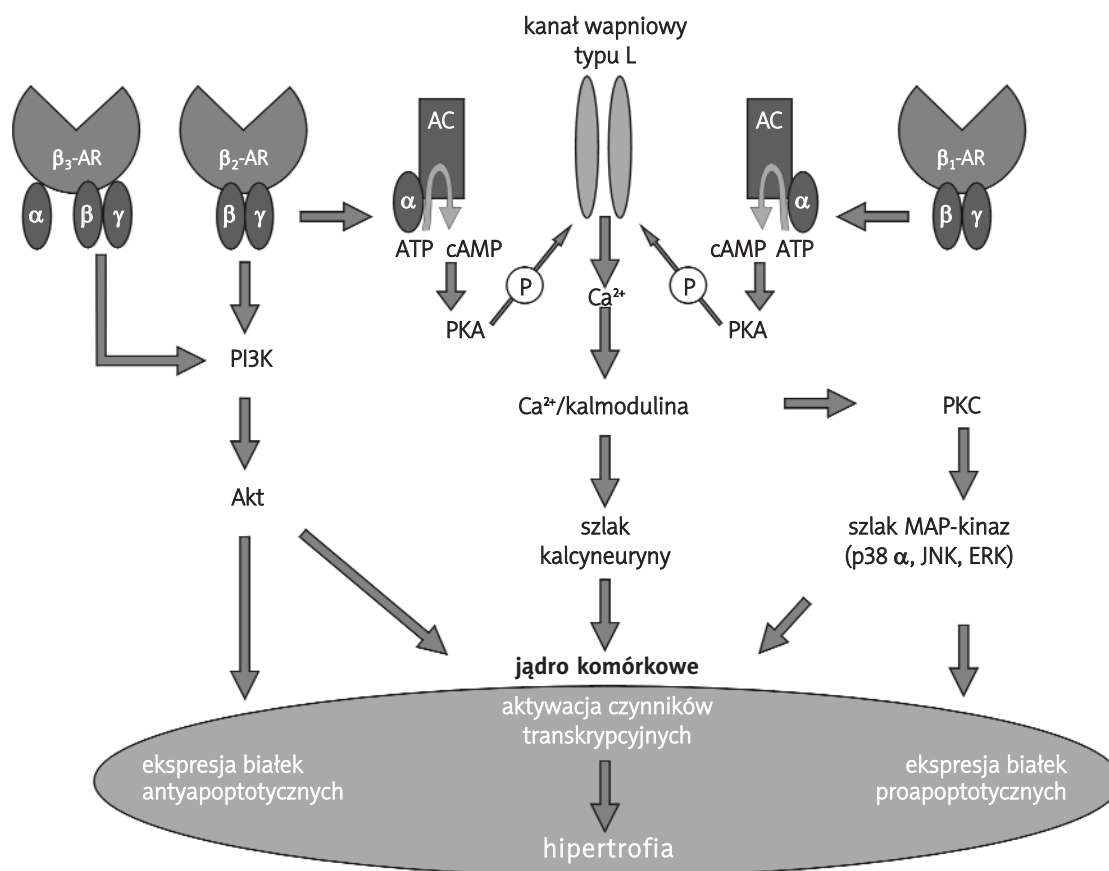
$\text{Ca}^{2+}$  napływa do komórki w czasie potencjału czynnościowego przez aktywowane depolaryzacją kanały wapniowe typu L. Napływ ten podnosi stężenie  $\text{Ca}^{2+}$  w wąskiej szczelinie diady, która znajduje się pomiędzy błoną zewnętrzną (sarkolemą) a błoną pęcherzyków siateczki sarkoplazmatycznej (SR). Wzrost stężenia  $\text{Ca}^{2+}$  w diadzie jest sygnałem prowadzącym do otwarcia aktywowanych wzrostem stężenia  $\text{Ca}^{2+}$  kanałów wapniowych SR zwanych receptorami rianodyny (ang. *ryanodine receptors*, RyRs) i uwolnienia zgromadzonego w siateczce  $\text{Ca}^{2+}$  (tzw. zjawisko wydzielania wapnia przez wapń). Po uwolnieniu  $\text{Ca}^{2+}$  z siateczki RyRs zamykają się, a jony  $\text{Ca}^{2+}$  dyfundują z diady w głąb komórki. Tam wiążą się z jednym z białek aparatu kurczliwego – troponiną C (TnC). Połączenie  $\text{Ca}^{2+}$  z TnC umożliwia interakcję białek kurczliwych i skurcz komórki. Wrażliwość TnC na  $\text{Ca}^{2+}$  jest regulowana przez fosforylację troponiny I (TnI). Następnie  $\text{Ca}^{2+}$  jest z powrotem transportowany z cytoplazmy do siateczki przez ATP-azę wapniową siateczki (SERCA), regulowaną przez fosfolamban (F). Ta ilość  $\text{Ca}^{2+}$ , która napłynęła do komórki przez kanały wapniowe L, jest – dla zachowania homeostazy wapniowej – usuwana na zewnątrz przez wymienniki sód-wapń (NCX) i ATP-azę wapniową sarkolemy (PMCA).

przez cAMP kinazy białkowej typu A. Enzym ten, poprzez przeniesienie reszt kwasu fosforowego z cząsteczki ATP na różne białka (fosforylacja), powoduje zmianę właściwości tych białek. Efektem czynnościowym fosforylacji białek przez kinazę białkową A (ang. *protein kinase A*, PKA) w sercu jest przyspieszenie akcji serca i przewodzenia p-k, wzrost siły skurczu i przyspieszenie rozkurczu mięśnia sercowego (Rycina 1) oraz szereg efektów metabolicznych.

Efekt inotropowo dodatni aktywacji  $\beta$ -AR jest związany z 4 efektami (Rycina 2.). Są to:

1. Fosforylacja białka kanału wapniowego typu L – powoduje zwiększony napływ jonów  $\text{Ca}^{2+}$  do komórki w cza-

sie potencjału czynnościowego i większą aktywację białek aparatu kurczliwego miocytów. Wiadomo obecnie, że do aktywacji kanału typu L dochodzi także w wyniku bezpośredniego oddziaływania podjednostki  $\text{G}\alpha_s$  z kanałem. W węzle p-k, aktywacja kanału wapniowego L powoduje dodatkowo wzrost amplitudy potencjałów czynnościowych i przyspieszenie przewodnictwa. Nawiasem mówiąc,  $\text{Ca}^{2+}$  napływający do komórki w wyniku aktywacji  $\beta$ -AR i kanału wapniowego pełni dodatkowo funkcję aktywatora różnych szlaków wewnątrzkomórkowych, czego ostatecznym efektem jest między innymi aktywacja genów i zmiana syntezy białek (szczegóły poniżej).



Rycina 3. Szlaki prowadzące do apoptozy i hipertrofii.  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  – podjednostki białka G

2. Fosforylacja fosfolambanu – powoduje aktywację ATP-azy wapniowej w siateczce sarkoplazmatycznej (SERCA). Skutkiem tego jest szybsze usuwanie  $\text{Ca}^{2+}$  z cytoplazmy i szybszy rozkurcz (efekt luzitropowy), a także większe gromadzenie  $\text{Ca}^{2+}$  w siateczce, a następnie uwalnianie z niej większej ilości  $\text{Ca}^{2+}$  i większa aktywacja kolejnego skurczu.
3. Fosforylacja kanałów wapniowych w siateczce sarkoplazmatycznej (tzw. receptorów rianodynowych – ang. *ryanodine receptors*, RyRs) – ułatwia ich otwarcie i prowadzi do wydzielenia z siateczki większej ilości  $\text{Ca}^{2+}$  i wzrostu siły skurczu.
4. Fosforylacja białka C znajdującego się na filamencie miozynowym – ułatwia tworzenie się potąceń pomiędzy miozyną i aktyną i sprzyja aktywacji skurczu. Dodatkowo w aparacie kurczliwym fosforylacji ulega także troponina I, w wyniku czego maleje powinowactwo troponiny C do  $\text{Ca}^{2+}$  i następuje szybsze odłączenie miozyny od aktyny oraz szybszy rozkurcz komórki (efekt luzitropowo dodatni) [3, 4].

Efekt chronotropowo dodatni aktywacji  $\beta$ -AR jest związany z aktywacją kanału jonowego F i przyspiesze-

niem automatyzmu w komórkach węzła zatokowego. Paradoksalnie, odbywa się to poprzez bezpośrednią aktywację kanału F przez cAMP, a nie poprzez fosforylację kanału.

#### Aktywacja $\beta_2$ -AR

W sercu ssaków i w sercu ludzkim  $\beta_2$ -AR są sprzężone zarówno z białkiem  $G_s$ , jak i z białkiem  $G_i$ . Jednakże w zdrowym sercu w sumie przewagę mają efekty związane z aktywacją cykazy adenylowej i zwiększoną produkcją cAMP. Rzeczywiście, wybiórcze pobudzenie  $\beta_2$  wywiera efekt inotropowo dodatni w sercu wielu ssaków i u ludzi [5], który jest spowodowany przede wszystkim fosforylacją kanału wapniowego typu L. Natomiast doniesienia o wpływie pobudzenia receptorów  $\beta_2$  na szybkość rozkurczu nie są zgodne [6, 7]. Wynika to prawdopodobnie z tego, że  $\beta_2$ -AR, poprzez białko  $G_i$ , a konkretnie kompleks jego podjednostek  $\beta\gamma$ , aktywuje szlak kinazy trójfosforanu inozytoli (ang. *phosphatidylinositol 3-kinase*, PI3K) i kinazy Akt (Rycina 3.) i że efekty aktywacji tego szlaku na wiele sposobów antagonizują działanie klasycznego szlaku aktywacji  $\beta$ -AR. Dla

przykładu, aktywacja szlaku  $\beta_2$ -AR-PI3K-Akt przeciwdziała fosforylacji fosfolambanu i troponiny I przez PKA [7], a także prowadzi do aktywacji błonowego wymiennika  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  (NCX) [8]. Wymiennik ten, usuwając  $\text{Ca}^{2+}$  z komórki, zmniejsza siłę skurczu, co osłabia inotropowe działanie katecholamin spowodowane aktywacją szlaku  $\beta_1$ -G<sub>s</sub> i  $\beta_2$ -G<sub>s</sub> (Rycina 1).

Te efekty aktywacji  $\beta_2$ -AR prawdopodobnie działają protekcyjne na serce. Po pierwsze, wiadomo, że fosforylacja fosfolambanu przez PKA przyspiesza wychwyt  $\text{Ca}^{2+}$  przez siateczkę śródplazmatyczną, a fosforylacja troponiny I ułatwia oddzielenie miozyny od aktyny i że oba te procesy są bardzo energochłonne. Fakt, że stymulacja  $\beta_2$ -AR przeciwdziała tym procesom, oznacza, że czyni ona pracę mięśnia sercowego bardziej energooszczędną. Po drugie, fosforylacja fosfolambanu i aktywacja ATP-azy wapniowej siateczki powoduje zwiększone wypełnienie siateczki  $\text{Ca}^{2+}$ , co jest czynnikiem sprzyjającym występowaniu tzw. depolaryzacji następczych późnych i groźnych arytmii. Stymulacja  $\beta_2$ -AR może wobec tego przeciwdziałać tym arytmiiom.

### Aktywacja $\beta_3$

Stymulacja  $\beta_3$ -AR przez katecholaminy prowadzi do aktywacji białka G<sub>i</sub>. Wybiórcza stymulacja  $\beta_3$ -AR przez fizjologiczne stężenia katecholamin (na tle blokady  $\beta_1$ -AR i  $\beta_2$ -AR) ma działanie inotropowo ujemne, przyspiesza rozkurcz i skraca potencjał czynnościowy. Jednakże działanie inotropowe jedynie częściowo ma związek z hamowaniem cykazy adenylowej przez białko G<sub>i</sub>. Znacznie ważniejsza dla tego efektu wydaje się aktywacja szlaku PI3K-Akt i wtórna do tego aktywacja tzw. śród błonkowej izoformy syntazy tlenu azotu (eNOS) w kardiomiocytach oraz zwiększona produkcja NO. Świadczy o tym fakt, że efekty aktywacji  $\beta_3$ -AR są znoszone przez blokery zarówno G<sub>i</sub>, jak i eNOS [9] (Rycina 1).

Mechanizm działania tak powstałego NO zawiera następujące elementy. NO aktywuje cyklazę guanylową, co prowadzi do wzrostu komórkowego stężenia cyklicznego GMP (cGMP). Z kolei cGMP aktywuje kinazę białkową G (PKG) oraz fosfodiesterazę typu drugiego (PDEII). Kinaza białkowa G fosforyluje: a) kanał wapniowy typu L, co przeciwnie do fosforylacji przez PKA zmniejsza prąd wapniowy i siłę skurczu, oraz b) troponinę I, co – podobnie jak fosforylacja przez PKA – przyspiesza rozkurcz. PDEII jest enzymem rozkładającym cAMP i tym samym prowadzącym do zmniejszenia aktywności PKA i stopnia fosforylacji jej substratów.

Ponadto podjednostka  $\beta\gamma$  białka G<sub>i</sub> sama przez się aktywuje kanały potasowe, prowadząc do skrócenia czasu trwania potencjału czynnościowego, co poprzez ograniczenie napływu  $\text{Ca}^{2+}$  do kardiomiocytów dodatkowo ogranicza ich kurczliwość.

### Katecholaminy regulują wrażliwość $\beta$ -AR na katecholaminy

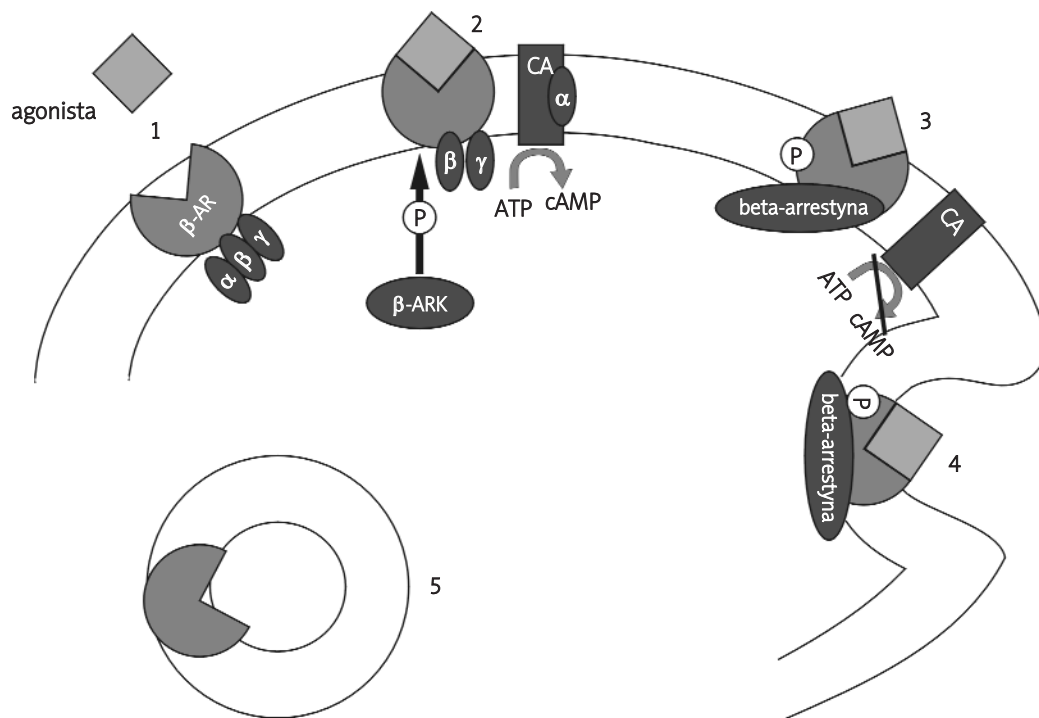
W wyniku długotrwałej stymulacji katecholaminowej, fosforylacji ulegają także same  $\beta$ -AR ( $\beta_1$ -AR i  $\beta_2$ -AR, ale nie  $\beta_3$ -AR). W procesie tym zaangażowane są trzy kinazy: PKA,  $\beta$ -arrestyna i kinaza  $\beta$ -AR ( $\beta$ -ARK), zwana również kinazą receptorów związanych z białkiem G typu 2 (GRK2). W miarę przedłużania się stymulacji  $\beta$ -AR i ich postępującej fosforylacji przez wymienione kinazy, dochodzi kolejno do:

- spadku powinowactwa  $\beta$ -AR do agonistów;
- spadku gęstości aktywnych  $\beta$ -AR na powierzchni błony komórkowej spowodowanego zwiększonym ich magazynowaniem w pęcherzykach podbłonowych oraz
- zmniejszenia ogólnej liczby  $\beta$ -AR w komórkach poprzez zahamowanie syntezy białka receptorowego.

Zespół ww. mechanizmów określany jest mianem *down-regulation*.

Dokładną ilustrację tego ważnego mechanizmu zabezpieczającego komórkę przed nadmierną stymulacją katecholaminową przedstawia Rycina 4. Receptory  $\beta$  podlegają reakcjom adaptacyjnym. W wyniku wzrostu stężenia katecholamin ich wrażliwość spada, co określa się także mianem odczulenienia (desensytyzacji). Desensytyzacja pozwala uniknąć potencjalnie szkodliwych skutków nadmiernej stymulacji komórki; jej wczesna faza zachodzi już w ciągu kilku sekund po ekspozycji na katecholaminy (etap 1–2.). Wskutek spadku wrażliwości receptorów zostaje także zablokowane sprzężenie receptora z białkiem G<sub>s</sub> (tzw. rozprężenie) – w procesie tym swój udział ma głównie beta-arrestyna. Wynikiem działalności  $\beta$ -ARK, beta-arrestyny (jako kinazy i jako rozprę-gacza) i PKA jest redukcja w czasie zdolności syntezy przekaźnika wtórnego – cAMP (etap 3.) oraz brak przekazywania sygnału do skurczu. Fosforylacja  $\beta$ -AR przez PKA sprzyja także związaniu receptora z białkiem G<sub>i</sub>.

Następną fazą reakcji adaptacyjnych beta-receptorów może być zmniejszenie ich gęstości w błonie komórkowej w wyniku endocytozy (etap 4.). W proces usuwania  $\beta$ -AR z powierzchni komórki (tzw. internalizację), trwający od kilku minut do kilku godzin, zaangażowane są bezpośrednio białka klatryna i AP2, a beta-arrestyna działa jako adaptor, aby dostarczyć  $\beta$ -AR do wpukleń błony komórkowej (endocytów) wyścielanych klatryną. Internalizacja jest procesem odwracalnym i receptory wracają po pewnym czasie na powierzchnię błony: beta-arrestyna oddysocjowuje od receptora, a kwaśne środowisko endosomów prowadzi do zmian konformacyjnych receptora, co pozwala na defosforylację receptora przez fosfatazę GPCR.  $\beta$ -AR mogą też ulec degradacji w lizosomach (tzw. internalizacja nieodwracalna) i dochodzi do spadku nie tylko ich gęstości, ale także ilości (etap 5.) [10, 11].



Rycina 4. Mechanizm zabezpieczający komórkę przed nadmierną stymulacją katecholaminową (opis w tekście)

### Przewlekła stymulacja $\beta$ -AR powoduje przerost i apoptozę kardiomiocytów

W procesie tym zaangażowane są trzy równoległe działające szlaki przekazywania informacji pokazane na Rycinie 3. Po pierwsze, w wyniku chronicznej stymulacji  $\beta_2$ -AR i  $\beta_3$ -AR dochodzi, poprzez podjednostkę  $G_{\beta\gamma}$ , do aktywacji kinazy trójfosfoinozytolu (PI3K), która aktywuje kinazę białkową typu B (PKB), zwaną również kinazą Akt. Kinaza Akt ma silne działanie antyapoptotyczne [12], a ponadto stymuluje wzrost komórek przez blokowanie kinazy syntazy glikogenu ( $GSK3-\beta$ ), która uniemożliwia aktywację jądrowych czynników transkrypcyjnych, w tym czynnika GATA-4 [13]. Po drugie, podjednostka  $\alpha$  białka  $G_s$ , zaktywowanego przez stymulację  $\beta_2$ -AR, uruchamia klasyczną ścieżkę AC-cAMP-PKA, przy czym PKA fosforyluje kanał wapniowy typu L i dochodzi do aktywacji kalmoduliny (ten sam szlak jest uruchamiany przez podjednostkę  $\alpha\beta_1$ -AR). Ma to dwie konsekwencje – po pierwsze, zostaje uruchomiony proapoptotyczny szlak kalcineuryny, po drugie, poprzez kinazę białkową C (PKC) dochodzi do aktywacji szlaku MAP-kinaz (ang. *mitogen activated protein kinase*, MAPK). Pokazano, że w wyniku chronicznej stymulacji  $\beta$ -AR dochodzi do aktywacji przynajmniej kilku kinaz szlaku MAPK, tj. kinazy

p38, kinazy JNK (ang. *jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase*) i ERK1/2 (ang. *extracellular signal activated kinase*) [14], wynikiem czego jest działanie proapoptotyczne i proapoptotyczne poprzez wpływ na ekspresję określonych białek.

Wydaje się, że nasilenie apoptozy jest czynnikiem ważnym w rozwoju niewydolności serca. Są również koncepcje, że to właśnie nasilenie apoptozy jest sygnałem, który może prowadzić (albo przynajmniej być czynnikiem sprzyjającym) do przejścia serca ze stanu skompensowanego przerostu do niewydolności [15]. Liczba miocytów wchodzących na drogę apoptozy bardzo rośnie w niewydolnym sercu. Zarówno nekrozę, jak i apoptozę stwierdzono w sercach eksplantowanych od pacjentów ze schyłkową niewydolnością serca [5]. W normalnych komórkach istnieje równowaga pomiędzy sygnałami anty- i proapoptotycznymi ustalającymi apoptozę na niskim poziomie (4–7%), jednak już 24-godzinna stymulacja komórek norepinefryną zwiększa liczbę apoptotycznych komórek ponad 3-krotnie [16]. Szczególnie stymulacja receptorów  $\beta_1$  nasila apoptozę, natomiast stymulacja  $\beta_2$  i  $\beta_3$  wydaje się działać antyapoptotycznie [17, 18]. Te obserwacje *in vitro* potwierdzono u zwierząt transgenicznych z nadekspresją  $\beta$ -AR. Myszy z nawet niewielką nadekspresją  $\beta_1$  (5–15 razy) rozwijają

niewydolność serca po upływie kilku miesięcy. Apoptoza i przerost komórek w sercach tych zwierząt są bardzo nasilone. Nadekspresja  $\beta_2$  do 100 razy powyżej normalnego poziomu nie prowadzi do rozwoju niewydolności serca u zwierząt poniżej 1. roku życia. Dopiero nadekspresja  $\beta_2$  >350 razy prowadzi do takich samych objawów jak niewielka nadekspresja  $\beta_1$  [19, 20]. Badania te pokazują, że chroniczna stymulacja receptorów  $\beta_1$  wywiera więcej niekorzystnych działań niż  $\beta_2$ .

Długotrwała stymulacja  $\beta_1$ -AR, oprócz nasilania przerostu i apoptozy, jest czynnikiem proarytmicznym. Nadmierna aktywacja PKA prowadzi do nadmiernej fosforylacji jej substratów. Szczególnie „przefosforylowanie” kanałów RyRs jest brzemienne w skutki. W jego wyniku dochodzi do nieszczelności RyRs w fazie wypełniania siateczki sarkoplazmatycznej. Uniemożliwia to gromadzenie w siateczce jonów  $\text{Ca}^{2+}$  i prowadzi do spadku siły skurczu, a poza tym stale „sączący się” z kanałów  $\text{Ca}^{2+}$  stymuluje wymiennik NCX. Prąd generowany przez wymiennik może być przyczyną niebezpiecznych dla życia arytmii. Według niektórych autorów nieszczelność RyRs jest jednym z głównych zaburzeń obiegu jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w komórkach niewydolnego serca, a jego przyczyną jest właśnie nadmierna stymulacja katecholaminowa [21]. Leki blokujące  $\beta$ -AR zmniejszają fosforylację RyRs i w ten sposób przywracają ich szczelność, zapobiegając arytmiiom [22].

## Zmiany w układzie receptorów $\beta$ -AR w niewydolności serca

Główne zmiany obserwowane w układzie receptorów  $\beta$ -AR w niewydolności serca to:

- 1) wzrost ekspresji i aktywności kinazy  $\beta$ -ARK;
- 2) spadek wrażliwości receptorów  $\beta_1$  i  $\beta_2$  na katecholaminy;
- 3) spadek gęstości  $\beta_1$  (zmniejszenie ilości mRNA o ok. 50%);
- 4) wzrost gęstości receptorów  $\beta_3$ ;
- 5) wzrost ekspresji białka  $G_i$ ;
- 6) wzrost powinowactwa receptora  $\beta_2$  do białka  $G_i$ .

Nie stwierdzono natomiast zmiany aktywności białka  $G_s$ , a aktywność CA w zależności od etiologii niewydolności może być obniżona lub niezmienną [23].

Najbardziej widoczną konsekwencją wymienionych powyżej zmian jest osłabienie szlaków aktywowanych przez stymulację receptorów  $\beta_1$ . Jest to spowodowane przede wszystkim spadkiem gęstości receptorów  $\beta_1$  będącej wynikiem internalizacji i degradacji receptorów, a także spadkiem ich wrażliwości na katecholaminy i zmniejszeniem ich powinowactwa do białek  $G_s$ . Niewątpliwym udziałem w tych zmianach ma wzrost ekspresji

kinazy  $\beta$ -ARK. Ponadto, zostaje bardzo silnie wyeksponowany szlak receptorów  $\beta_2$ . Spadek gęstości  $\beta_1$  i brak spadku  $\beta_2$  zmienia proporcję  $\beta_1/\beta_2$ . W zdrowym sercu wynosi ona 70–80%/20–30%, a w sercu niewydolnym może sięgać nawet 50%/50%. Wzrost ekspresji białka  $G_i$  sprawia, że większość  $\beta_2$  sprzęga się właśnie z tym białkiem. Rośnie też znaczenie szlaku  $\beta_3$ . Receptory  $\beta_3$  nie podlegają fosforylacji przez  $\beta$ -ARK, nie ulegają więc odczuleniu i internalizacji, a ponadto rośnie ich ekspresja. Pomimo wielu badań nad zmianami szlaków sygnalizacyjnych związanych z receptorami  $\beta$ -AR w niewydolności serca, znaczenie tych zmian nadal nie jest do końca wyjaśnione.

Oslabienie szlaku  $\beta_1$  wydaje się z jednej strony korzystne, ponieważ sygnały aktywujące apoptozę i przerost komórek ulegają znacznemu osłabieniu, ponadto spada zużycie energii przez mięsień sercowy i zmniejsza się predyspozycja do arytmii. Z drugiej jednak strony osłabienie szlaku aktywowanego przez  $\beta_1$  zmniejsza zdolność mięśnia sercowego do odpowiedzi na katecholaminy i pozbawia serce mechanizmu dostosowującego rzut minutowy do zwiększonego zapotrzebowania organizmu.

Wyeksponowanie szlaku  $\beta_2$  z kolei wydaje się korzystne, bo zabezpiecza komórki przed apoptozą, kierując je na drogę przeżycia. Z drugiej jednak strony dodatkowo osłabia odpowiedź serca na katecholaminy. Jak wspomniano wcześniej, stymulacja receptorów  $\beta_2$  aktywuje za pośrednictwem białka  $G_i$  wymiennik NCX. W niewydolności serca znaczenie tego szlaku bardzo rośnie, ponieważ zwiększa się ekspresja zarówno białka  $G_i$ , jak i NCX. W takiej sytuacji stymulacja  $\beta_2$  może znacznie obniżyć kurczliwość, a także być czynnikiem proarytmogennym (pracy NCX towarzyszy przepływ przez błonę depolaryzującego prądu) [8].

Wyeksponowanie szlaku  $\beta_3$  również nie może być ocenione jednoznacznie i wydaje się z jednej strony korzystne, bo – podobnie jak wyeksponowanie szlaku  $\beta_2$ - $G_i$  – może zabezpieczać serce przed nadmierną stymulacją katecholaminową, ponadto przyspiesza rozkurcz i skraca potencjały czynnościowe. Z drugiej jednak strony, szczególnie w skrajnej niewydolności, może prowadzić do dalszego spadku funkcji hemodynamicznej serca.

Tak więc obserwowane w niewydolności serca zmiany w układzie receptorów  $\beta$ -AR mogą być korzystnym mechanizmem ochronnym, ponieważ osłabiają znaczenie szlaku  $\beta_1$  związanego z nasileniem apoptozy, zmniejszają zużycie energii i zapobiegają arytmiiom. Z drugiej jednak strony spadek  $\beta_1$  na korzyść  $\beta_2$  i  $\beta_3$  może być przyczyną obniżonej odpowiedzi serca na katecholaminy w niewydolności serca (Rycina 5.). W związku z tym skuteczność beta-blokerów, które są lekami standardowo stosowanymi w niewydolności serca

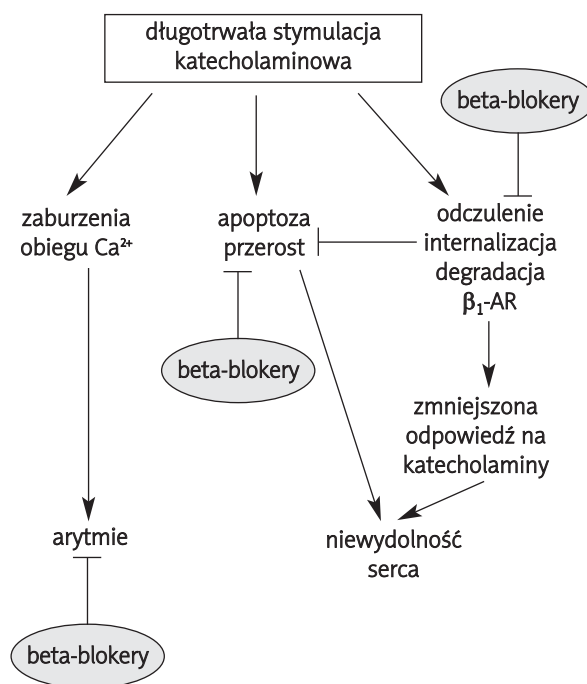
i zmniejszają śmiertelność we wszystkich grupach chorych, wynika prawdopodobnie zarówno z dalszego blokowania toksycznych efektów nadmiernej stymulacji katecholaminowej, jak i z obserwowanej podczas leczenia normalizacji proporcji receptorów  $\beta$ -AR (na korzyść  $\beta_1$ ) oraz normalizacji ekspresji  $\beta$ -ARK i białka  $G_i$ . Możliwe, że pomimo blokady receptorów  $\beta$ -AR przywrócenie proporcji typowej dla zdrowego serca umożliwi odpowiedź serca na nagły wzrost poziomu katecholamin i uruchomienie krótkotrwałej odpowiedzi inotropowo dodatniej, zwiększającej rzut minutowy w celu sprostanienia zwiększonemu zapotrzebowaniu organizmu.

### Nowe strategie w modulowaniu aktywności szlaków $\beta$ -AR w niewydolności serca

Odkrycie nowych szlaków sygnalizacyjnych uruchamianych przez stymulację receptorów  $\beta_2$  i  $\beta_3$  nasuwa pomysły stosowania nowych strategii blokujących układ receptorów  $\beta$ -AR. Przede wszystkim dotyczą one wyboru pomiędzy strategią nieselektywnego blokowania  $\beta$ -AR a strategią odmiennego oddziaływania na  $\beta_1$  i  $\beta_2$ , a także indywidualnego podejścia do receptorów  $\beta_3$ . Przytoczone dane na temat szlaków aktywowanych przez poszczególne typy  $\beta$ -AR sugerowałyby korzyść z wybiórczego blokowania  $\beta_1$ , z których stymulacją związanych jest więcej toksycznych efektów. Jednak badanie COMET porównujące skuteczność karwedilolu i metoprololu nie przyniosło ostatecznej odpowiedzi na pytanie, czy selektywne blokowanie  $\beta_1$  jest korzystniejsze niż blokowanie nieselektywne [24]. Karwedilol, oprócz nieselektywnego blokowania  $\beta_1$  i  $\beta_2$ , blokuje jeszcze receptory  $\alpha$ -adrenergiczne i syntezę endoteliny-1. Ponadto użyte dawki leków i stopień blokowania receptorów  $\beta_1$  przez karwedilol i metoprolol były odmiennie [25].

Ostatnio w dwóch pracach zastosowano wybiórczą blokadę receptorów  $\beta_1$  przy jednoczesnej aktywacji  $\beta_2$  po eksperymentalnym zawale serca u szczurów. Uzyskane wyniki nie są jednoznaczne. W jednej z prac u szczurów po zawale stosowano metoprolol i aktywator receptorów  $\beta_2$  – clenbuterol. Każdy z nich poprawiał funkcję hemodynamiczną serca, zmniejszał apoptozę i „naprawiał” obieg  $Ca^{2+}$ , jednak skojarzenie dwóch substancji nie przyniosło dodatkowych korzystnych efektów [26]. Z kolei Ahmet i wsp. [27] pokazali, że dołączenie do metoprololu fenoterolu (wybiórczego aktywatora  $\beta_2$ , silniejsza aktywacja szlaku  $\beta_2$ - $G_s$  niż  $\beta_2$ - $G_i$ ) u szczurów po zawale serca zmniejszało przemodelowanie serca, ekspansję zawału i apoptozę.

W kolejnej pracy, u psów z niewydolnością serca wywołaną drażnieniem szybkim rytmem, wybiórcza stymulacja  $\beta_3$  dawała pogorszenie funkcji hemodynamicznej serca [28], a antagonistą  $\beta_3$  ją poprawiał [29].



Rycina 5. Konsekwencje długotrwałej stymulacji katecholaminowej

Tak więc, pomimo ponaddwudziestoletniego doświadczenia w stosowaniu beta-blokerów, wiele pytań pozostaje bez odpowiedzi. Przede wszystkim dotyczących sensu stosowania oddzielnych interwencji farmakologicznych skierowanych na  $\beta_1$  i  $\beta_2$  oraz możliwości blokowania receptorów  $\beta_3$ .

### Piśmiennictwo

1. Wallukat G. The beta-adrenergic receptors. *Herz* 2002; 27: 683-90.
2. Wheeler-Jones CP. Cell signalling in the cardiovascular system: an overview. *Heart* 2005; 91: 1366-74.
3. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature* 2002; 415: 198-205.
4. Lohse MJ, Engelhardt S, Eschenhagen T. What is the role of beta-adrenergic signaling in heart failure? *Circ Res* 2003; 93: 896-906.
5. Molenaar P. The 'state' of beta-adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 2003; 140: 1-2.
6. Xiao RP, Cheng H, Zhou YY, et al. Recent advances in cardiac beta (2)-adrenergic signal transduction. *Circ Res* 1999; 85: 1092-100.
7. Jo SH, Leblais V, Wang PH, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase functionally compartmentalizes the concurrent G (s) signaling during beta2-adrenergic stimulation. *Circ Res* 2002; 91: 46-53.
8. Sato M, Gong H, Terracciano CM, et al. Loss of beta-adrenoceptor response in myocytes overexpressing the Na+/Ca (2+)-exchanger. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36: 43-8.



9. Gauthier C, Leblais V, Moniotte S, et al. The negative inotropic action of catecholamines: role of beta3-adrenoceptors. *Can J Physiol Pharmacol* 2000; 78: 681-90.
10. El Armouche A, Zolk O, Rau T, et al. Inhibitory G-proteins and their role in desensitization of the adenylyl cyclase pathway in heart failure. *Cardiovasc Res* 2003; 60: 478-87.
11. Metaye T, Gibelin H, Perdrisot R, et al. Pathophysiological roles of G-protein-coupled receptor kinases. *Cell Signal* 2005; 17: 917-28.
12. Communal C, Colucci WS, Singh K. p38 mitogen-activated protein kinase pathway protects adult rat ventricular myocytes against beta-adrenergic receptor-stimulated apoptosis. Evidence for Gi-dependent activation. *J Biol Chem* 2000; 275: 19395-400.
13. Condorelli G, Drusco A, Stassi G, et al. Akt induces enhanced myocardial contractility and cell size in vivo in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 12333-8.
14. Fajardo G, Zhao M, Powers J, et al. Differential cardiotoxic/cardioprotective effects of beta-adrenergic receptor subtypes in myocytes and fibroblasts in doxorubicin cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 2006; 40: 375-83.
15. Narula J, Haider N, Virmani R, et al. Apoptosis in myocytes in end-stage heart failure. *N Engl J Med* 1996; 335: 1182-9.
16. Remondino A, Kwon SH, Communal C, et al. Beta-adrenergic receptor-stimulated apoptosis in cardiac myocytes is mediated by reactive oxygen species/c-Jun NH2-terminal kinase-dependent activation of the mitochondrial pathway. *Circ Res* 2003; 92: 136-8.
17. Molenaar P, Parsonage WA. Fundamental considerations of beta-adrenoceptor subtypes in human heart failure. *Trends Pharmacol Sci* 2005; 26: 368-75.
18. Steinberg SF. The molecular basis for distinct beta-adrenergic receptor subtype actions in cardiomyocytes. *Circ Res* 1999; 85: 1101-11.
19. Engelhardt S, Hein L, Wiesmann F, et al. Progressive hypertrophy and heart failure in beta1-adrenergic receptor transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 7059-64.
20. Liggett SB, Tepe NM, Lorenz JN, et al. Early and delayed consequences of beta (2)-adrenergic receptor overexpression in mouse hearts: critical role for expression level. *Circulation* 2000; 101: 1707-14.
21. Marks AR. Ryanodine receptors, FKBP12, and heart failure. *Front Biosci* 2002; 7: d970-7.
22. Doi M, Yano M, Kobayashi S, et al. Propranolol prevents the development of heart failure by restoring FKBP12.6-mediated stabilization of ryanodine receptor. *Circulation* 2002; 105: 1374-9.
23. Ungerer M, Bohm M, Elce JS, et al. Altered expression of beta-adrenergic receptor kinase and beta 1-adrenergic receptors in the failing human heart. *Circulation* 1993; 87: 454-63.
24. Poole-Wilson PA, Swedberg K, Cleland JG, et al. Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 362: 7-13.
25. Bristow MR, Feldman AM, Adams KF Jr, et al. Selective versus non-selective beta-blockade for heart failure therapy: are there lessons to be learned from the COMET trial? *J Card Fail* 2003; 9: 444-53.
26. Xydas S, Kherani AR, Chang JS, et al. beta (2)-Adrenergic stimulation attenuates left ventricular remodeling, decreases apoptosis, and improves calcium homeostasis in a rodent model of ischemic cardiomyopathy. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 317: 553-61.
27. Ahmet I, Lakatta EG, Talan MI. Pharmacological stimulation of beta2-adrenergic receptors (beta2AR) enhances therapeutic effectiveness of beta1AR blockade in rodent dilated ischemic cardiomyopathy. *Heart Fail Rev* 2005; 10: 289-96.
28. Cheng HJ, Zhang ZS, Onishi K, et al. Upregulation of functional beta (3)-adrenergic receptor in the failing canine myocardium. *Circ Res* 2001; 89: 599-606.
29. Morimoto A, Hasegawa H, Cheng HJ, et al. Endogenous beta3-adrenoreceptor activation contributes to left ventricular and cardiomyocyte dysfunction in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H2425-33.